

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. med. H. FISCHER

Ein Beitrag
zur Pharmakologie
der Calebassen-Curarealkaloide
C-Curarin I, C-Toxiferin I
und C-Calebassin

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

Vorgelegt von

FRIEDRICH OLIVIER GYSLING

von Zürich

Genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. med. H. FISCHER

Zürich 1953

BUCHDRUCKEREI TH. FREY LIESTAL



Ein Beitrag zur Pharmakologie der Calebassencurarealkaloide C-Curararin I, C-Toxiferin I und C-Calebassin.

Die Calebassen-Curarealkaloide, von Wieland (1) zur Vereinfachung der Nomenklatur mit dem Präfix "C" gekennzeichnet, sind heute im Gegensatz zur Boehm'schen Einteilung nicht mehr klassifiziert nach der Art ihres Behälters sondern nach ihrer einheitlichen botanischen Herkunft aus Strychnosarten. Zur Gewinnung des Calebassencurare dient neben *Strychnos cogens*, *Str. pedunculata*, *Str. Mitscherlichii* u.a. besonders *Strychnos toxifera*. Nach Marsh (4) kennt man heute mit Sicherheit 20 Strychnosarten, die als Calebassen-Curare-Ingredienzien verwendet werden; neun davon enthalten in ihrer Rinde curarisierende Alkaloide.

Boehm (6) gelang es zu Anfang dieses Jahrhunderts, aus dem wässrigen Auszug aus Calebassen-Curare neben dem nicht curarisierenden aber herzkraftigen tertiären Curarin das quaternäre stark paralisierende Curarin zu isolieren, das er als chemisch einheitlichen Stoff betrachtete. Boehms Curarin ist aber nicht identisch mit einem der drei bis heute bekannten C-Curarinen; da das Ausgangsmaterial, das Boehm für seine Untersuchungen verwendete, z.Z. nicht mehr erhältlich ist, ist es unsicher, welche Substanz von Boehm als Curarin angesehen wurde. McIntyre (7) nimmt an, dass es wahrscheinlich unrein war und Toxiferine enthielt, Bovet (3) glaubt, dass es vielleicht mit einer von King (5) aus *Strychnos toxifera* isolierten tertiären Base identisch sei, und Marsh (4) vermutet, dass es eine Mischung von C-Toxiferin I und vielleicht C-Curararin I darstelle.

Es ist das Verdienst Wielands und seiner Mitarbeiter (1), 1937-41 erstmals aus Wasser- oder Metanolextrakten aus verschiedenen Calebassen-Curare oder auch direkt aus dem wässrigen Auszug aus der Rinde von *Strychnos toxifera* durch chromatographische Adsorption an Aluminiumoxyd einige Calebassen-Curarealkaloide rein isoliert zu haben. Heute weiss man zwar, dass auch so noch oft Gemische erhalten werden.

In Fortsetzung der Untersuchungen konnten 1947 Schmid und Karrer (2,14) ebenfalls chromatographisch neun weitere Reinalkaloide, darunter das C-Calebassin und das C-Toxiferin I, isolieren, die sich papierchromatographisch als absolut rein und einheitlich erwiesen, und deren pharmakologische Wirksamkeit von Waser (8) und Marsh (4) geprüft wurde. Zur gleichen Zeit wurden auch neun synthetisch hergestellte Strychnidin- und Dihydrostrychnidin-chlor-alkylate von Karrer, Eugster und Waser (9) auf ihre Curarewirkung untersucht.

Im Fröschversuch wurde die Toxizität fast sämtlicher bis anhin bekannten Calebassen-Curarealkaloide von verschiedenen Autoren geprüft. Die Bestimmung der curarisierenden Potenz beschränkte sich jedoch zur Hauptsache auf die Bestimmung der minimal wirksamen Dosis, und unseres Wissens wurden bei Fröschen keine Untersuchungen über den Ablauf der Curarisierung vorgenommen, während bei höheren Tieren (Kaninchen, Katze) der Curarisierungsverlauf approximativ studiert wurde (8,4). Da aber die Toxizität eines curarisierenden Pharmakons nicht nur charakterisiert wird durch die kleinste wirksame Dosis, sondern auch durch seine Wirkungsdauer und Wirkungsintensität in verschiedenen Konzentrationen, hielten wir es für gerechtfertigt, im Fröschversuch, der die Möglichkeit bietet, den Wirkungsmechanismus curarisierender Stoffe im Serienversuch mit einfachen Methoden zu verfolgen, das Curarisierungsvermögen der drei Calebassen-Curarealkaloide C - T o x i f e r i n I, C - C u r a r a r i n I und C - C a l e b a s s i n erneut zu untersuchen, wobei uns daran gelegen war, einige allgemeine pharmakologische und elektro-physiologische Probleme der Curarisierung mitzubüberichtigen.

Methode und Theoretisches.

Im gesamten untersuchten wir die Toxizität der drei Alkaloide in 330 Froschversuchen (145 für die eigentliche Toxizitätsbestimmung, 120 für Rheobasennmessungen, restliche für Kontrollen) an 165 ranæ temporariae mit einem Gewicht zwischen 30 und 50 gr. Kontrollversuche mit der minimalen paralytischen Dosis (m.p.D.) zeigten bei allen drei Alkaloiden gleiche Streuwerte für Tiere von 30 wie von 50 gr, so dass man die Empfindlichkeit beim Frosch direkt proportional seinem Gewicht annehmen darf. Beim Kaninchen jedoch beobachtete Boehm (6), dass schwerere Tiere empfindlicher als leichtere waren.

Beim Frosch bestehen starke jahreszeitliche Schwankungen in der Empfindlichkeit gegenüber Calebassen-Curarealkaloiden. Paton (10) z.B. fand die m.p.D. für C-Toxiferin I im September doppelt so hoch wie im März. In Kontrollversuchen während der kurzen Zeit von Mitte Dezember bis Mitte Januar konnten wir allerdings keinerlei Schwankungen in der Empfindlichkeit feststellen; wohl aber glauben wir annehmen zu dürfen, dass die von uns gefundenen Werte für die m.p.D. auch z.T. deswegen durchwegs geringer sind als die von anderen Autoren angegebenen, weil wir die Wirksamkeitsprüfung in einer Zeit durchführten, da Frösche gegenüber Curarealkaloiden am empfindlichsten sind. Unsere Werte sind aber auch deswegen geringer, weil wir wie Paton (10) lediglich kurzdauernde Rückenlage, nicht aber Reflexlosigkeit als Kriterium für die m.p.D. benützten. (S. auch Seite 5.)

Die von Hori (zit. nach McIntyre, p.155 (7)) gefundene Temperaturabhängigkeit der Empfindlichkeit konnten wir nicht bestätigen. In Kontrollversuchen prüften wir die drei Alkaloide in verschiedenen Dosierungen an zwei Gruppen von je 18 Fröschen. Die eine Gruppe umspülten wir mit Wasser von 6°, die andere mit Wasser von 25° und fanden bei dieser Temperaturdifferenz keinen Unterschied in der Dauer der Paralyse oder in der bis zum Wirkungseintritt verstreichenden Latenzzeit.

Sämtliche Untersuchungen wurden mit den in Wasser gelösten, papierchromatographisch reinen Alkaloidchloriden vorgenommen. Das Alkaloid wurde in den dorsalen Lymphsack injiziert. Im Kontrollversuch mit verschiedenen Alkaloidkonzentrationen erfolgte der Wirkungseintritt bei intramuskulärer oder intraperitonealer Injektion annähernd gleich schnell wie bei endolymphaler Applikation.

K. Morishima (zit. nach Boehm, p.211 (6)) stellte 1899 bei mit Boehm'schem Curarin vergifteten Fröschen eine erhebliche Gewichtszunahme infolge verminderter Harnsekretion und Wasseraufnahme aus der Umgebung fest. Wir überprüften seine Beobachtungen mit unseren drei Reinalkaloiden an 24 Fröschen unter folgenden Bedingungen: ein Frosch wurde mit wechselnden Dosen Alkaloid curarisiert, in Bauchlage auf einen Teller gelegt, der 40 ccm aqua dest. enthielt, das alle vier Stunden erneuert wurde. Dabei konnten wir bei allen drei Alkaloiden die Morishima'sche Beobachtung bestätigen. Die Gewichtszunahme schwankte je nach Dosierung und Art des Alkaloides in folgenden Werten:

	m.p.D.:	5	10	20	50
C-Toxiferin I		5 ₊₁	6 ₊₁	11 ₊₂	12 ₊₂
C-Curarin I		7 ₊₂	11 ₊₂	17 ₊₃	20 ₊₃
C-Calebassin		2 ₊₁	4 ₊₁	7 ₊₂	8 ₊₂

(Die Zahlen der Tabelle entsprechen Prozentsen der Gewichtszunahme innert 24 Stunden.)

Die Rückkehr zum ursprünglichen Gewicht erfolgte durch die nach der Curarisierung einsetzenden Polyurie in 24-60 Stunden nach der endolymphalen Applikation. McIntyre (7) glaubt, freilich ohne es bis jetzt bewiesen zu haben, dass die durch curarisierende Substanzen hervorgerufene Oligurie durch eine vermehrte Ausschüttung des antidiuretischen Prinzips des Hypophysenhinterlappens zustande käme.

Auffallend sind die von Alkaloid zu Alkaloid schwankenden Werte der Gewichtszunahme. Das C-Calebassin bewirkt die geringste, das C-Curarin I die bedeutendste Zunahme in allen Dosierungen. Wir glauben annehmen zu dürfen, da wir die Gewichtszunahme in erster Linie auf eine veränderte Harnbildung zurückführen, dass sich die Differenzen in der antidiuretischen Wirkung der Alkaloide auf ihre unterschiedliche Wirkung auf die Nierendurchblutung zurückführen lassen. In diesem Zusammenhang ist für die Urinfiltration ein Vergleich mit den von Wasser (8) ermittelten Blutdruckwirkungen interessant: Wasser fand in höheren Dosen den Blutdruckabfall bei der Applikation von C-Curarin I dreimal so hoch wie nach der Injektion von C-Toxiferin I oder C-Calebassin. Derselbe Autor wies auch nach Applikation der drei Reinalkaloide im Katzenversuch histologisch einen partiellen Nieren-Shunt nach.¹⁾

Im einzelnen gestaltet sich das Bild der Curarisierung beim Frosch mit mittleren und kleineren Dosen folgendermassen: unmittelbar nach der endolymphalen Applikation zeigt das Tier kein besonderes Verhalten. Spontan und auf äussere Reize hin vollführt es noch Sprünge, die mit zunehmender Curarisierung bald kürzer und weniger hoch ausfallen.²⁾ Im weiteren Verlauf der Curarisierung ist es dem Frosch bald unmöglich, Sprünge auszuführen; es gelangen ihm nur noch schwankende Gehbewegungen, und die beginnende Paralyse der Vorderbeine macht sich bald bemerkbar, so dass die Brustregion nicht mehr von der Unterlage abgehoben werden kann. Kurz darauf erfasst die Paralyse auch die Hinterbeine, Gehbewegungen können keine mehr ausgeführt werden, und die Beine werden meist in abnormer Stellung gehalten. Auffälligerweise kann aber der Frosch selbst in diesem Stadium noch auf wiederholte kräftige äussere Reize (z.B. durch Kneifen der Zehen) noch normal hohe Sprünge ausführen.

Als nächste Muskelgruppe wird die Nackenmuskulatur gelähmt, der Kopf sinkt, ähnlich dem head-drop beim Kaninchen auf die Unterlage. Kurz nachher wird auch die Rückenmuskulatur gelähmt. In diesem Stadium kann ein in Rückenlage gebrachter Frosch sich nicht mehr umwenden. Die fast gleichzeitig mit der Lähmung der Rückenmuskulatur einsetzende Lähmung der Bauchmuskulatur wird deutlich am Einsinken der Bauchdecken und an der besseren Sichtbarkeit der Herzaktion.

Als letzter Muskel wird das Zwerchfell von der Lähmung betroffen. Die Frequenz der Atemzüge beginnt zu sinken, bis schliesslich dem Frosch nur noch wenige schnappende Atembewegungen in der Minute gelingen. Längere Zeit jedoch noch nach dem Eintritt des totalen Atemstillstandes können noch Atembewegungen durch mehrfache starke äussere Reize ausgelöst werden. Der Kneifreflex schliesslich verschwindet als letztes äusserlich feststellbares Merkmal der Curarisierung.

Nach Eintritt der vollkommenen Paralyse konnten wir bei allen drei Alkaloiden Exophthalmus und Mydriasis beobachten. Die Mydriasis ist wahrscheinlich kaum durch Anoxaemie bedingt; (die Hautatmung genügt ja dem

¹⁾ Persönliche Mitteilung.

²⁾ Ueber den Einfluss der Curarealkaloide auf die rohe Muskelkraft, für welche die Sprunghöhe und -weite ein einfaches Mass darstellt, bestehen widersprechende Angaben. A. Feuerstein (zit. nach Boehm, p.223) stellte am isolierten Muskelpräparat unveränderte, W. Overend (ebendort) verminderte Muskelkraft unter Curarewirkung fest. Die Frage, ob curarisierende Substanzen die Muskelkraft auch direkt vermindern, bleibt also z.Z. noch offen.

Frosch vollkommen während Tagen zur Aufrechterhaltung seines Sauerstoffbedarfs), so dass man die Mydriasis und den Exophthalmus vielleicht als zentrale Nebenwirkungen der Alkaloide betrachten darf.

Auffallend im ganzen Verlauf der Curarisierung ist folgende Erscheinung: es kann durch kurz hintereinander gesetzte starke äussere Reize zu wiederholten Malen und in kurzen Abständen bewirkt werden, dass der Frosch je nach Curarisierungsstadium z.B. bei anscheinend völliger Beinlähmung noch normal hohe Sprünge ausführt, sich bei scheinbar gelähmter Rumpfmuskulatur aus der Rückenlage umdreht, längere Zeit nach Eintritt des totalen Atemstillstandes wieder schnappende Atembewegungen ausführt, dass sich schliesslich der Kneifreflex nach Eintritt der Reflexlosigkeit wieder auflösen lässt.

Alle diese Phänomene, die die quantitative Erfassung der Curarisierung sehr erschweren können, bilden unseres Erachtens ein Analogon zu einer von Boyd und Brosnan (zit. nach McIntyre, p.111 (7)) entdeckten Erscheinung. Die genannten Autoren fanden nämlich, dass ein curarisiertes Nerv-Muskelpreparat, das bei indirekter Reizung auf einzelne Stromstösse nicht mehr ansprach, wieder für kurze Zeit erregbar gemacht werden konnte durch Applikation eines tetanisierenden Stroms, auf den das Präparat mit einer einzelnen Muskelzuckung antwortete.

Wir versuchten nun, durch starke und in hoher Frequenz gesetzte äussere mechanische Reize (Kneifen der Zehen) einen ähnlichen Effekt hervorzurufen wie ein am Nerv angelegter tetanisierender Strom, in dem Sinn, dass der bis anhin gegen motorische Reize refraktäre Muskel zur Kontraktion gebracht werden sollte. Wenn wir curarisierte Frösche kurz hintereinander mehrmals kräftig in die Zehen kniffen, konnten wir tatsächlich während etwa einer halben Minute je nach Curarisierungsstadium Streck- oder Atembewegungen oder Kneifreflexe auslösen, die bis dahin erloschen gewesen waren. Die Uebereinstimmung mit den von Boyd und Brosnan gefundenen Zeitwerten (die genannten Autoren fanden die partielle Erholung der Muskelansprechbarkeit nach Tetanisierung des Nerven von einer Dauer von 20-30 Sekunden) glauben wir als weiteren Beweis für die Analogie zur partiellen Erholung nach tetanisierender Reizung werten zu dürfen.

Merkwürdigerweise war in allen unseren Versuchen die Dauer der partiellen Erholung von der Dosierung und der Art des Alkaloides unabhängig. Sie schwankte zwischen 18 und 43 Sekunden. Die kurzdauernde Erholung der Muskelerregbarkeit lässt sich aber nicht in beliebig kurzen Abständen wiederholen: nach einer einmal durch Reizung bewirkten Wiederansprechbarkeit bleibt der Muskel endgültig während einer bestimmten Zeit refraktär und kann durch keinerlei Massnahmen wieder ansprechbar gemacht werden. Diese t o t a l e Refraktärzeit hingegen ist abhängig von Dosis und Art des Alkaloides. Wir fanden, dass sie sich in einem Bereich zwischen der vier- und zehnfachen m.p.D. ungefähr proportional zum Quadrat der Dosis verhält. Das C-Toxiferin I bewirkt die längste, das C-Curarin I die kürzeste totale Refraktärzeit. Von der etwa 15-fachen m.p.D. an lässt sich der Muskel durch keine äussere Reize mehr ansprechbar machen. Der Muskel folgt in seinem Erholungsvermögen also einer Art "Alles-oder-nichts-Gesetz", d.h. die totale Refraktärzeit nimmt nicht kontinuierlich zu, sondern wird bei der ca. 15-fachen m.p.D. praktisch unendlich.

Eine ausreichende Erklärung für das Auftreten der partiellen Erholung besteht z.Z. noch nicht. McIntyre (7) (p.111) glaubt, dass die Tetanisierung des Nerven eine vorübergehende Erhöhung der Lokalkonzentration an Kalium an den Synapsen bewirke.

Wurden den Fröschen sehr hohe Alkaloiddosen, die der etwa 50-fachen m.p.D. entsprechen, injiziert, verlief die Curarisierung etwas anders als bei kleinen und mittleren Dosen. Wohl trat die Muskellähmung begreiflicherweise sehr rasch ein; vor der Lähmung aber, besonders unmittelbar nach der

Injektion, wurden die Tiere unruhig, ihre Atemfrequenz stieg, Reflexe liessen sich durch die leiseste Berührung auslösen, und häufig kam es auch zu leichten klonischen Krämpfen der Extremitäten. Eigentlichen Tetanus hingegen konnten wir nie beobachten, auch sahen wir nie wie Tille (zit.nach Boehm, p.199 (6)) in der von uns verwendeten Dosierung nach einer primären Reflexdepression eine gesteigerte Reflexerregbarkeit auftreten. Konvulsionen, die bei verschiedenen Curarealkaloiden bei intracerebraler, intraaortaler oder intralumbaler Applikation auftreten, beobachteten wir unter unseren Versuchsbedingungen ebenfalls nie.

Quantitative Bestimmung des Curarisierungsvermögens der einzelnen Alkaloide.

Um zu einem möglichst differenzierten Bestimmungsverfahren für die Toxizität der einzelnen Alkaloide zu gelangen, haben wir uns folgender Kriterien zur quantitativen Analyse der Curarisierungspotenz bedient:

1. Bestimmung der Dosis, die 50% der Tiere eben noch soweit zu paralysieren vermag, dass sie zwei Minuten in Rückenlage gebracht werden können: minimal paralytische Dosis (m.p.D.). Für die m.p.D. verlangten wir keine Reflexlosigkeit, im Gegensatz zu anderen Autoren (8,1), die die m.p.D. nach der reflexlosen Rückenlage definierten.

Die Bestimmung der m.p.D. erfolgte zuerst durch Interpolation der Kurve, die den Prozentsatz der gelähmten Tiere angab bei Dosierungen, die je etwa 30% unter und über der m.p.D. lagen. Dieser theoretisch gefundene Wert wurde sodann an je 20 Fröschen pro Alkaloid experimentell nachkontrolliert. Dabei zeigte es sich, dass die Abweichungen vom theoretisch ermittelten Wert in keinem Fall im Maximum mehr als + 10% betrugen und bei einer grösseren Zahl von Versuchstieren sicher noch als erheblich geringer angenommen werden dürften.

Die nach dieser Methode bestimmten absoluten Werte für die m.p.D. beim Frosch betrugen

für C-Toxiferin I	0,0055	(+ 15% maximale Streuung)	mg/kg
für C-Curarin I	0,068	(+ 12% " ")	mg/kg
für C-Calebassin	0,190	(+ 6% " ")	mg/kg

Die m.p.D. kann erheblich verringert werden, wenn der Frosch systematisch ermüdet wird. Wir konnten sie bei allen drei Alkaloiden bis um 30% vermindern, indem wir den Frosch bis zum Eintritt der Lähmung pro Minute mindestens zehnmal auf den Rücken legten und ihn sich wieder drehen liessen.

Die Verringerung der Alkaloiddosis durch Ermüdung lässt sich mit einer z.Z. bestehenden Theorie der Curarisierung nicht in befriedigender Weise erklären. Sicher ist die Ermüdung ihrem Wesen nach nicht identisch mit der Curarisierung. Die Lapique'sche Theorie des während der Curarisierung bestehenden Heterochronismus zwischen Nerv und Muskel bietet keine Hilfe für das Verständnis der potenzierenden Wirkung der Ermüdung. Nach der chemischen Theorie der Curarewirkung könnte man sich vorstellen, dass die Ermüdung die Acetylcholkonzentration an den Endplatten senken würde. Nach Rosenblüth (zit. nach McIntyre (7), p.109) brauchte die Konzentrationsverminderung nicht einmal nur an den Synapsen zu erfolgen, da der Curare-Acetylcholin-Antagonismus auch am entnervten Muskelpräparat in Erscheinung tritt. Dazu könnten noch höchst komplexe und wenig erforschte Curarewirkungen auf den Muskelchemismus kommen. So z.B. fanden Lippman und Wajzer (zit. nach McIntyre (7), p.145), dass Curare den Phosphagenabbau im tetanisierten Muskel behindert, und in diesem Zusammenhang wäre es auch denkbar, dass der von Hunasako (zit. nach McIntyre (7), p.146) gefundene inhibitorische Effekt des Curare auf die Nebenniere durch die Ermüdung noch verstärkt würde.-

Auf die Bestimmung der Dosis letalis, die beim Frosch sehr hoch liegt (in einigen Kontrollversuchen ertrugen Frösche das über Hundertfache der m.p.D.), mussten wir wegen Materialmangels verzichten.

2. Bestimmung der Zeit nach der Injektion bis zum Auftreten der Paralyse (charakterisiert durch die Rückenlage) bei variabler Dosierung. (S. Kurve 1.)

Diese Zeitspanne, die natürlich mit steigender Dosierung immer kürzer wird, kann ebenfalls durch systematische Ermüdung stark verkürzt werden. Bei Dosierungen, die der ein- bis zehnfachen m.p.D. entsprechen, lässt sie sich bis um 20% verringern. Bei höheren Dosen erfolgt der Wirkungseintritt auch beim nicht ermüdeten Tier so schnell, dass die Verkürzung weniger ins Gewicht fällt.

Die Beschleunigung des Wirkungseintritts kann auch durch die mit der Ermüdung verbundenen Muskelhyperaemie und der damit gesteigerten Giftzufuhr zum Muskel erklärt werden. Sicher spielen ähnliche Momente wie bei der durch die Ermüdung bedingten Dosisverringern eine Rolle, da nach der chemischen Theorie der Curarewirkung bei tieferem Acetylcholin-schwellwert der Endplatten geringere Curaremenngen genügen.

3. Bestimmung der Lähmungsdauer bei verschiedener Dosierung. (S. Kurve 1.)

Auch die Lähmungsdauer lässt sich durch systematische Ermüdung verlängern. In Dosierungen, die der zwei- bis fünffachen m.p.D. entsprechen, ist die Verlängerung am deutlichsten und beträgt im Maximum bis zu 10% der Lähmungsdauer, während in höheren Dosen kaum mehr ein Einfluss durch die Ermüdung festzustellen ist.

Die Lähmungsdauer in Abhängigkeit von der Dosierung, deren Ende wir durch das spontane Umdrehen des Frosches festsetzten, ist unter den von uns bestimmten Grössen diejenige, die die grösste Streuung aufweist. Die Abweichungen vom Mittelwert betrugen im Maximum bis zu + 50%, wobei die Streubreite von der fünffachen m.p.D. an ungefähr proportional mit der Dosierung zunimmt.

4. Bestimmung der minimalen Dosis, die Atemstillstand bewirkt und Bestimmung der Dauer des Atemstillstandes bei verschiedener Dosierung.

Bei allen drei Alkaloiden fanden wir, dass die 2,5- ($\pm 20\%$) fache m.p.D. Atemstillstand bewirkt. Die Zeit, die bis zum Eintritt des Atemstillstandes vergeht, beträgt annähernd das Doppelte derjenigen, die vom Augenblick der Injektion an gerechnet bis zum Eintritt der Lähmung der Extremitäten- und Rumpfmuskulatur verstreicht. Die Dauer des Atemstillstandes bei der drei- bis zehnfachen m.p.D. schwankt zwischen 4/5 bis 7/8 der totalen Paralyseudauer.

5. Bestimmung der minimalen Dosis, die Reflexlosigkeit bewirkt und Bestimmung der Dauer der Reflexlosigkeit bei verschiedenen Dosierungen.

Areflexie, gekennzeichnet durch das Verschwinden des Kneifreflexes, trat bei allen drei Alkaloiden in der 4,2- ($\pm 16\%$) fachen m.p.D. auf. Das Verhältnis der Dauer der Reflexlosigkeit zur Dauer der Rückenlage ist bei allen drei Alkaloiden ausserordentlich konstant und beträgt von der fünffachen m.p.D. an 0,66 ($\pm 8,5\%$).

Unsere Beobachtungen der Dauer der Reflexlosigkeit stehen im Gegensatz zu denen, die mit Boehm'schem Curarin gesammelt wurden. Kölliker, Haber und Funke (zit. nach Boehm (6), p.198) geben die Zeit, während der an partiell curarisierten Fröschen noch Reflexe auszulösen sind, mit drei bis 24 Stunden an. V. Bezold (zit. nach Boehm (6), p.198) konstatierte sogar eine Temperaturabhängigkeit der Areflexiedauer, eine Beobachtung, die wir ebenfalls nicht bestätigen konnten.

Die Zeit, die post injectionem bis zum Eintritt der Reflexlosigkeit verstreicht, dauert bei allen drei Alkaloiden ungefähr doppelt so lang wie die, die bis zum Eintritt der Paralyse vergeht.

6. Quantitative Erfassung der durch die Curarisierung bewirkten elektro-physiologischen Veränderungen.

Da die Bestimmung der Lähmungsdauer in Abhängigkeit von der Dosierung ein relativ rohes Bestimmungsverfahren für die Curarisierung ist und über die Wirkungsintensität wenig aussagt, verwendeten wir zur genaueren Analyse des Curarisierungsablaufs die indirekte Muskelreizung, wobei die Höhe der Spannung, die nötig war, um eben noch eine Muskelzuckung hervorzurufen, als Gradmesser für die Lähmungsintensität diente.

Unmittelbar nachdem der Frosch soweit gelähmt war, dass er sich in Rückenlage bringen liess, legten wir den N. ischiadicus bloss und reizten ihn mit einer bipolaren, chlorierten Silberelektrode, deren Polabstand zwei Millimeter betrug, mit Stromstössen aus Kondensatorentladungen von variabler Intensität aber von der konstanten Dauer von rund 0,01 Sekunde. Wir wählten eine derart kurze Stromdauer, um der physiologischen Erregungsart möglichst nahe zu kommen. Die verwendete Kondensatorentladung dauert bei jeder der verwendeten Spannungen immer noch fünfzigmal länger als die Nutzzeit bei doppelter Spannung und darf somit der Rheobase gleichgesetzt werden. Hingegen bewirkt die der Rheobase entsprechende Spannung nur eine Schliessungszuckung; die Dauer des Stromstosses ist bei den von uns verwendeten Spannungen zu kurz, um auch eine Öffnungszuckung auszulösen. Es kommt also beim Durchfluss eines Stromstosses von Rheobasenhöhe zu keiner intraneuralen Gewebepolarisation und damit auch nicht zur Bildung eines Gegenpotentials, das eine Öffnungszuckung auslösen würde.

Um den Ischiadicus sowenig als möglich zu traumatisieren, reponierten wir ihn zwischen zwei Messungen jeweilen wieder in die Muskellogen, beträufelten ihn mit Frosch-Ringerlösung und legten über das ganze Wundgebiet einen mit Ringerlösung befeuchteten Tampon. Eine Abdiffusion der Alkaloidlösung aus dem Wundgebiet kommt bei dieser Versuchsanordnung kaum in Betracht, da die ganze Operation sozusagen unblutig vorgenommen werden kann, die Muskelfaszien weitgehend geschont werden, und die Ringerlösung dem Gewebe isoton ist.

Wie wenig der Nerv unter diesen Versuchsbedingungen geschädigt wird, beweist die Tatsache, dass Frösche, deren Ischiadicus nach Abschluss des Versuchs wieder endgültig reponiert und deren Haut über dem Wundgebiet durch Naht verschlossen wurde, nach zwei Tagen bereits wieder normal hohe Sprungbewegungen ausführen konnten.

Bei der Messung der minimalen Spannungshöhe, die eben noch eine Muskelzuckung bewirkt, sind verschiedene Fehlerquellen zu berücksichtigen:

A. Das Erlöschen der indirekten elektrischen Erregbarkeit ist nicht identisch mit dem Eintritt der Areflexie; denn Reflexe können noch eine Zeit lang fortbestehen, nachdem sich indirekt keine Muskelzuckung mehr auslösen lässt. Wenn die Alkaloiddosis nicht über der 4,2-fachen m.p.D. liegt, bleiben die Reflexe überhaupt erhalten, wählt man die Dosis höher, überdauern sie die indirekte Erregbarkeit während einer Zeit, die etwa halb so lange dauert wie die, die vom Eintritt der Rückenlage bis zum Verschwinden der Reflexerregbarkeit vergeht.

B. Schon Boehm stellte am isolierten Nerv-Muskelpreparat fest, dass unter dem Einfluss der Curarisierung "mit in gleichen Zeitintervallen periodisch wiederholten gleichstarken Einzelreizungen Reihen von fast stetig geradlinig an Höhe bis Null abnehmende Muskelzuckungen auszulösen sind", eine Beobachtung, die wir auch in vivo für die drei Alkaloide bestätigen konnten. Boehm setzt die Abnahme der Zuckungshöhe in Analogie zur normalen Muskelermüdung. Wir glauben, dass dieser Vergleich nur insofern gerechtfertigt ist, als sich der curarisierte Muskel in einer be-

stimmten Zeit bei kleineren Dosen wieder völlig erholen kann, und dass die Curarisierung ihrem Wesen nach sonst grundsätzlich von der Ermüdung verschieden ist.

Die Messung der Rheobase kann also nicht beliebig oft pro Zeiteinheit wiederholt werden. Doch stellten wir fest, dass eine Pause von zwei Minuten genügt, um selbst bei den höchsten Alkaloiddosen den Muskel sich wieder völlig erholen zu lassen.

C. Auch bei der Messung der Rheobase zeigte es sich, dass lange nach dem Erlöschen der indirekten Erregbarkeit noch Muskelzuckungen ausgelöst werden konnten, wenn man eine Mehrzahl von kurz hintereinander folgenden Stromstößen entsprechend einem Tetanus auf den Nerven einwirken lässt. Die partielle Erholung der indirekten Erregbarkeit dauert unter diesen Bedingungen etwa eine halbe Minute. Die Intensität der Zuckungen nimmt während der partiellen Erholung rasch ab. Die Dauer des der partiellen Erholung folgenden Intervalls, während dessen der Muskel gegen indirekte Erregbarkeit vollkommen refraktär bleibt, ist in Dosierungen zwischen der zwei- bis fünffachen m.p.D. auch hier ungefähr proportional dem Quadrat der Dosis, wenn die totale Refraktärzeit fünf Minuten vor dem Wiederauftreten und fünf Minuten nach ihrem Erlöschen gemessen wird. Die Zeit des Wiederauftretens der indirekten Erregbarkeit lässt sich deshalb eindeutig nur in dem Augenblick feststellen, da der Muskel auf eine einzige Kondensatorentladung von maximalem Potential mit einer Zuckung antwortet und dauernd erregbar bleibt.

D. Bei der Bestimmung der Rheobasen in verschiedenen Stadien der Curarisierung zeigte es sich bei den Alkaloiden C-Toxiferin I und C-Calebassin, dass die Rheobase bei der zwei- bis vierfachen m.p.D. am Anfang der Curarisierung zwar ansteigt, dann aber plötzlich wieder für kurze Zeit kleiner wird und erst nach dieser vorübergehenden Verminderung endgültig ansteigt. (S. Kurven 2,3 und 4.) Zur gleichen Zeit, da die Rheobase sinkt, steigert sich die Lähmung des Tieres bis zur völligen Schläffheit, so dass die passagere Senkung der Rheobase identisch ist mit dem völligen Tonusverlust der Muskulatur und sich zwanglos folgendermassen erklären lässt: durch die Lähmung der tonischen Muskelinnervation nimmt die Intensität eines motorischen Impulses, der nötig ist, um eben noch eine Zuckung hervorzurufen, ab, weil die durch den Tonus bedingte Muskelspannung, die dem Impuls entgegenwirkt, dahinfällt.

Der vollkommene Tonusverlust kann bedingt sein durch eine zentrale Wirkung der Alkaloide, d.h., dass aus der Störung des Synapsenaequilibriums eine Unterdrückung des Tonusreflexbogens resultiert. Andererseits ist ein, allerdings nicht vollkommener, Tonusverlust von Mies (Zit. nach McIntyre, p.176 (7)) auch aufgefasst worden als neurovegetative Curarewirkung, da die "Wirkung des Epinephrins und des Eserins auf die Muskelgefässe nach vorher applizierter subparalytischer Curaredosis gering ist".

Leichter ist eine periphere Wirkung auf den Tonus zu erklären, wenn man annimmt, dass die vom ZNS ausgehenden reflektorischen Erregungen nicht mehr genügen, um an den myoneuralen Synapsen soviel Acetylcholin freizusetzen, dass daraus eine Kontraktion resultieren könnte, dass hingegen künstlich gesetzte starke motorische Reize noch für eine Zuckung genügend Acetylcholin mobilisieren.

Die Dauer der durch die vollkommene Atonie bewirkten Senkung in der Rheobasenkurve ist von Dosis und Art des Alkaloides abhängig. Bei Dosen, die über der fünffachen m.p.D. liegen, ist sie so kurz, dass sie höchstens noch als geringgradige Abflachung imponiert. Interessant ist, dass das C-Curararin I auch in kleinster Dosierung keine Senkung bewirkt. Wir glauben deshalb annehmen zu dürfen, dass das C-Curararin I eventuell überhaupt keine Wirkung auf den Muskeltonus ausübt oder erst sehr spät und somit, wenn man den Muskeltonus

mus als zentral gesteuert auffasst, zumindestens in Bezug auf die Sensomotorik bei endolymphaler Applikation von zentralen Wirkungen frei ist.

Die Höhe der Rheobase ist weitgehend temperaturunabhängig. Fortlaufen der Abklüftung des N. ischiadicus und der von ihm versorgten Muskulatur mit Wasser von 5-8° üben auf Form und Höhe der Rheobasenkurven keinerlei Einfluss aus. Bei der geringsten Traumatisierung des Nerven durch Knickung oder Ueberdehnung hingegen stieg die Rheobase sofort stark an.

E. Im Zusammenhang mit der Bestimmung der Rheobase untersuchten wir auch die Wirkung der drei Alkaloide auf die Chronaxie unseres "in-vivo"-Nerv-Muskelpreparates. Die Chronaxie, die Nutzzeit bei der doppelten Rheobase, lässt sich durch Entladung von Kondensatoren variabler Kapazität leicht berechnen, da sie proportional der Kondensatorkapazität ist.

Lapique (12) stellte bekanntlich schon zu Anfang dieses Jahrhunderts die Theorie auf, dass die Curarisierung den normalerweise zwischen Nerv und Muskel bestehenden Isochronismus unter Erhöhung der Chronaxie des Muskels in einen Heterochronismus verwandle. Die Theorie des curarebedingten Heterochronismus blieb nicht unangegriffen: wohl wurde allgemein zugegeben, dass hohe Curaredosen die Chronaxie des Muskels erhöhen. Dosen jedoch, die lediglich die indirekte Erregbarkeit zum Verschwinden bringen, müssten noch keinen Heterochronismus bewirken, oder umgekehrt brauche sogar ein deutlicher Heterochronismus noch keine Paralyse zu bedingen. Die Höhe der Chronaxieveränderung soll auch von der Curareart abhängig sein. (Zit. nach Bovet (3).)

Lapique benütze am Anfang seiner Studien für die Chronaxiemessung als Kathode einen die Muskulatur durchbohrenden Metalldraht. Unter dieser Versuchsanordnung verdoppelt sich die Chronaxie erst in dem Augenblick, da die indirekte Erregbarkeit verschwindet, während sie bis dahin unverändert bleibt. Ersetzt man aber die Kathode durch eine aus zwei Silberdrähten mit abgestumpfter Spitze bestehende bipolare Elektrode, die auf die Muskeleoberfläche aufgesetzt wird, findet man sogar auch nach dem Erlöschen der indirekten Erregbarkeit die Muskelchronaxie an den distalen Abschnitten der Muskelfaser unverändert, im Mittelteil der Muskelfaser aber, wo die motorischen Endplatten liegen, immer heraufgesetzt.

Mit der Methode, die wir zur Messung der Rheobase benützen, war es leicht, auch die Chronaxie unseres "in-vivo"-Präparates zu messen, indem wir die Rheobase verdoppeln und die Kapazität variieren. Die verwendete Methode, bei der die Elektrode am Nerv angelegt wird, gestattet natürlich nicht, eine eventuelle Chronaxieänderung zu lokalisieren, lässt aber immerhin feststellen, ob sich die Chronaxie überhaupt verändert.

Bei allen drei Alkaloiden zeigt es sich nun, dass die mit der beschriebenen Methode gemessene Chronaxie in jedem Stadium der Curarisierung konstant bleibt. Ihre Grösse betrug 0,15 Sigma mit einer maximalen Streuung von 0,05 Sigma. Die relativ grosse Streubreite von rund 65% rührt nicht von Streuungen bei wiederholten Messungen beim gleichen Tier her sondern bezieht sich auf das gesamte untersuchte Tiermaterial. Am Einzeltier bestimmte Chronaxiewerte weisen während der Curarisierung nur etwa eine Streuung von 15% auf, wobei sich die Zahl der höheren Werte mit zunehmender Curarisierung nicht vermehrt.

Nicht nur die Chronaxie bleibt konstant, sondern auch die in verschiedenen Curarisierungsstadien aufgenommenen Reizzeit-Spannungskurven unterscheiden sich nur durch die Verschiebung in Richtung der Spannungsachse, nicht aber in ihrer Form. Die Deckungsgleichheit der Reizzeit-Spannungskurven darf als weiterer Beweis des zur Zeit der indirekten Erregbarkeit bestehenden Isochronismus zwischen Nerv und Muskel gelten.

Funktionsanalyse des Curarisierungsvermögens der einzelnen Alkaloide.

Eine genaue Funktionsanalyse der Curarewirkung der untersuchten Alkaloide ist allein schon deshalb gerechtfertigt, weil es nach Wasser (8) nicht ausgeschlossen ist, dass die Calabassen-Curarealkaloide in den klinischen Gebrauch eingeführt werden. Sicher ist der Froschversuch nicht geeignet, die

Therapiefähigkeit der drei Alkaloide beurteilen zu lassen, da er wenig oder nichts aussagt über ihre Nebenwirkungen auf Blutdruck, ZNS, Intestinal-, Urogenital- und Respirationstrakt ect; die quantitative, rein myoneurale Toxizität der Alkaloide dürfte hingegen auch beim Warmblütler nicht stark von den beim Frosch gefundenen Verhältnissen abweichen.

Die Rheobasenkurven, die an und für sich schon ein gutes Kriterium für das Curarisierungsvermögen der drei Alkaloide darstellen, lassen sich noch zu einer genaueren Funktionsanalyse der drei Alkaloide nach folgenden Gesichtspunkten verwenden:

1. Abhängigkeit der Curarisierungsintensität von der Dosis.

Selbstverständlich nimmt die Intensität der Curarisierung mit zunehmender Dosis zu, was sich in den Rheobasenkurven ausdrückt durch Ordinatenerhöhung. Vom klinischen Standpunkt aus wird aber auch eine möglichst ausgedehnte Wirkungsbreite verlangt, d.h., dass von einem gewünschten Curarisierungsgrad an die Intensität der Curarisierung bei Dosissteigerung möglichst langsam zunehmen soll. Wenn man den Anstieg der Rheobasenwerte bei den einzelnen Alkaloiden untereinander vergleicht, konstatiert man, dass das C-Toxiferin I bei Dosiserhöhung die geringste Steigerung der Curarisierungsintensität bewirkt, während beim C-Curarin I jede Erhöhung der Dosis die Curarisierungsintensität sprunghaft in die Höhe treibt.

2. Curarisierungsdauer.

Neben einer möglichst günstigen therapeutischen Breite verlangt der Kliniker von einem Curarepräparat noch eine lange Curarisierungsdauer bei geringer Dosis. Die Rheobasenkurven zeigen eindrucklich, dass das C-Toxiferin I von einer gewissen Curarisierungsintensität an die weitaus längste Curarisierungsdauer auslöst. (Vgl. Kurven 2,3 und 4.)

3. Gesamtwirkung der Alkaloide bei variabler Dosierung.

Um die einzelnen Alkaloide in ihrer Gesamtwirkung untereinander vergleichen zu können, stellten wir noch den "Curarisierungsindex" I.T auf (T:Dauer der Curarisierung, I:Curarisierungsintensität ausgedrückt durch die maximale Höhe der Rheobase), den wir in der graphischen Darstellung (s.Kurve 5) als Funktion der Dosis ausdrückten. Dasjenige Alkaloid, das den grössten Curarisierungsindex ergibt und dessen Curarisierungsindex bei steigender Dosierung nur langsam ansteigt, kommt einem idealen Curarepräparat am nächsten.

Die Curarisierungsindexkurve beweist von neuem, dass das C-Toxiferin I die weitaus günstigste therapeutische Breite aufweist; denn sein Curarisierungsindex steigt bei Dosiserhöhung nur langsam an. Das C-Calebassin steht von den drei untersuchten Alkaloiden im Hinblick auf klinische Verwendbarkeit an letzter Stelle; denn es liefert die geringsten Indexwerte (tiefer Beginn der Indexkurve) und besitzt die ungünstigste therapeutische Breite (steiler Anstieg der Indexkurve). Das C-Curarin I nimmt eine Mittelstellung ein. Sein rascher Wirkungseintritt und seine kurze Wirkungsdauer könnten es in der Klinik höchstens für kurzdauernde Eingriffe verwenden lassen.

Für die allgemeine klinische Verwendung würde sich also nach unseren Untersuchungen, die auch mit den von Waser (8) gefundenen Ergebnissen übereinstimmen, das C-Toxiferin I am ehesten eignen. Neben allfälligen zentralen Nebenwirkungen würde beim C-Toxiferin I allerdings nachteilig ins Gewicht fallen, dass sein Wirkungseintritt erst längere Zeit nach der Applikation erfolgt.

Quantitative Beziehungen im Antagonismus Curare-Prostigmin bei den untersuchten Alkaloiden.

Zur Toxizitätsbestimmung eines curarisierenden Pharmakons gehört auch die quantitative Erfassung der antagonistischen Dosis eines Anticurarisans. Obwohl der Antagonismus zwischen Curare und Stabilisatoren des Acetylcholins schon seit der Jahrhundertwende bekannt ist, weist das Schrifttum über quantitative antagonistische Verhältnisse nur ausserordentlich spärliche Angaben auf. Unseres Wissens haben am Warmblütler-Ganztier nur Koppanyi und Vivino (zit. nach Bovet (3)), Chase und Raaflaub (Chase von Raaflaub zitiert (13))

quantitative Verhältnisse im Curare-Prostigminantagonismus untersucht, während die antagonistische Prostigmindosis für die von uns untersuchten Calebassen-Curarealkaloide überhaupt noch nicht bestimmt ist.

Alle drei Alkaloide sind in ihrer Wirkung prompt durch Prostigmin aufhebbar. Wir wählten das Prostigmin, weil z.Z. das gebräuchlichste Curareantidot ist, obwohl es nach McIntyre (7) nicht als Mittel der Wahl angesehen werden kann. Cummis (Canad. M.A.J., 47/326) andererseits nennt es "a spectacular and perfect drug", im Gegensatz zu Adams (Surg.Clinics, North Am., Mayo Clinic Numb. 25/735, 45), der annimmt, dass dem Physostigmin "a more specific antidotal effect" zueigen sei.

Der periphere Wirkungsmodus des Prostigmins ist eindeutig abgeklärt: durch Hemmung der Cholinesterase kommt es zu einer Erhöhung der Lokalkonzentration an Acetylcholin an den Synapsen, die der Curarisierung entgegenwirkt. Der zentrale Wirkungsmechanismus ist noch nicht eindeutig abgeklärt. Nach Pick und Unna (J. of Pharmacology 83/59, 45) ist die Injektion von 0,2-1,0 mg/kg Prostigmin bei Fröschen gefolgt von einer Verminderung der Amplitude und der Frequenz der Potentiale im Elektroencephalogramm. Chatfield und Dempsey (zit. nach Pick und Unna, J. of Pharmacol. 83/59, 45) applizierten im Katzenversuch Prostigmin direkt auf den Cortex und konstatierten eine vorübergehenden Herabsetzung der spontanen Aktivität sowohl im Wirkungsgebiet der Areae, auf die sie das Prostigmin einwirken liessen, wie auch in den Erfolgsorganen des übrigen motorischen Cortex. Im einzelnen sind die zentralen Wirkungen des Prostigmins noch nicht völlig erfasst; immerhin scheint z.Z. festzustehen, dass das Prostigmin nicht imstande ist, zentrale Wirkungen von curarisierenden Pharmaka aufzuheben.

Die Prüfung der antagonistischen Prostigminwirkung in quantitativer Hinsicht erfolgte nicht nur aus theoretischem Interesse, sondern auch im Hinblick auf eine eventuelle klinische Verwendung der Calebassen-Curarealkaloide: eine massive Prostigminüberdosierung könnte sich nämlich klinisch unangenehm bemerkbar machen durch Blutdruckabfall, Schock und andere vegetativ-vagotone Symptome. Es ist auch darauf hinzuweisen, dass eine hochgradige Prostigminüberdosierung die Curarewirkung noch verstärken kann; denn das Prostigmin wirkt zufolge der quarternären Ammoniumgruppe des m-Oxymethyl-trimethylammoniums von einer gewissen Dosis an selbst curarisierend. Chase und Mitarbeiter (zit. nach Raaflaub (13)) fanden, dass 0,05 mg/kg Prostigmin den head-drop nach Tubocurarin beim Kaninchen aufheben kann, während 0,12 mg/kg den head-drop bereits verlängert. Am isolierten Froschmuskelpreparat dagegen stellte Raaflaub (13) fest, dass das Prostigmin erst in der 200-fachen antagonistischen Dosis curarisierend wirkt, und glaubt, annehmen zu dürfen, dass sich Warmblütler leichter durch Prostigmin curarisieren lassen.

Die quantitativen Beziehungen der antagonistischen Prostigmindosis untersuchten wir in 105 Kaninchenversuchen an zehn Kaninchen. Da wir den Antagonismus als Funktion der Curaredosis ausdrücken wollten, prüften wir die Aufhebbarkeit in verschiedenen Stadien. Als ersten sehr konstanten und objektiv eindeutig feststellbaren Curarisierungsgrad wählten wir nach Holaday (zit. in Wintersteiner und Dutcher, Science 97/476, 34; Fed. Proc. 7/261, 48) das head-drop-Phänomen, d.h. das Niedersinken des Kopfes infolge Lähmung der Nackenmuskulatur.

Bei der Kontrollbestimmung der head-drop-Dosis konnten wir die von Wasser (8) angegebenen Werte weitgehend bestätigen. Für einen dreiminütigen head-drop wurden 0,025 (+15%) mg/kg C-Curarin I, 0,004 (+20%) C-Toxiferin I und 0,095 (+10%) C-Calebassin benötigt. Der Schwellwert für einen kurzdauernden head-drop lag bei unseren Kontrollen bei 0,020 (+20%) C-Curarin I, 0,0035 (+24%) C-Toxiferin I und bei 0,085 (+13%) mg/kg C-Calebassin.

Die antagonistische Prostigmindosis wurde weiterhin bestimmt für die Alkaloiddosis, die Seitenlage auslöst (etwa 1,15-fache head-drop-Dosis) und für Curarekonzentrationen, die Atemstillstand bewirken. (Atemstillstand wird

bei allen drei Alkaloiden durch die ungefähr 1,35-fache head-drop-Dosis hervorgerufen.)

Um der klinischen Anwendungsweise möglichst nahe zu kommen, wurde der Antagonismus bei intravenöser Kurzcurarisierung geprüft: die in höchstens einem ccm Wasser gelösten Alkaloidchloride wurden innerhalb zehn Sekunden in eine Ohrvene injiziert. Dabei wurde häufig schon während der Injektion, besonders bei den rasch wirkenden Alkaloiden C-Curarin I und C-Calebassin die Muskulatur des injizierten Ohres gelähmt, eine Erscheinung, die wir uns nur durch die Annahme offener arterio-venöser Anastomosen erklären können.

Die Durchblutungsverhältnisse spielen bei der Curarisierung der Warmblütler eine noch bedeutsamere Rolle als bei den Kaltblütlern. Allein durch freies Umhergehenlassen gelang es uns, ähnlich wie bei den Froschversuchen durch die systematische Ermüdung, die Dauer des Eintrittes bis zur Curarisierung um etwa 10% zu verkürzen, die Curarisierungsdauer selbst um etwa 10% zu verlängern. Auf die benötigte antagonistische Prostigmindosis blieb die Muskelarbeit ohne Einfluss, was als weiterer Hinweis dafür gelten kann, dass Curarisierung und Ermüdung einander nicht ohne weiteres gleichgesetzt werden dürfen.

Die Curarisierung war begleitet von mannigfachen Nebenerscheinungen: beim C-Toxiferin I notierten wir häufig initiale Tachypnoe, oder lange vor dem Eintritt der Zwerchfelllähmung, Atmung vom Cheyne-Stoke'schen Typus. Sehr eindrucklich ist auch der häufige initiale Exophthalmus, der besonders oft beim C-Toxiferin I beobachtet wurde und in seiner Intensität stark schwankt, manchmal geradezu als "Exophthalmus pulsans" imponiert.

Auffällig ist, dass das C-Curarin I mit Ausnahme der Mydriasis von äußerlich sichtbaren zentralen Nebenwirkungen frei ist. Auch im Froschversuch bewirkte es ja keine zentrale Tonussenkung. Aus unseren Versuchen lässt sich jedoch nicht mit Sicherheit entscheiden, ob ihm überhaupt zentral erregende Eigenschaften abgehen, oder ob seine zentralen Wirkungen sehr flüchtige Art sind und bald von der peripheren Lähmung überlagert werden im Sinn einer "convulsio sine convulsione".

Beim Eintritt der gewünschten Curarisierungsintensität wurde Prostigmin langsam (in einminütiger Injektionsdauer) injiziert, um übermäßigen störenden vegetativen Nebenwirkungen vorzubeugen. Eine Prostigminüberdosierung, die über der doppelten antagonistischen Dosis lag, manifestierte sich noch während der Injektion durch verstärkte Salivation, extreme Miosis und häufig auch durch Defaecation.

Eine merkwürdige Erscheinung stellten wir im Antagonismus C-Toxiferin I-Prostigmin fest: wenn wir uns mit der Prostigmindosis soweit nach unten getastet hatten, dass sie eben noch knapp zur Aufhebung der Curarisierung genügte, beobachteten wir etwa in der Hälfte aller Versuche, dass nach zwei bis fünf Minuten ein erneuter head-drop auftrat. Das Synapsenacetylcholin wird also offenbar durch die Limesdosis Prostigmin nicht endgültig stabilisiert; die erhöhte Reizschwelle gegenüber der wirksamen Acetylcholinkonzentration überdauert sichtlich die Hemmung der Cholinesterase.

Während zwei Versuchen schalteten wir sicherheitshalber zur völligen Ausschwemmung sowohl des Prostigmins wie auch der Curarealkaloide eine zweitägige Pause ein. In Kontrollversuchen stellten wir allerdings fest, dass sich Kaninchen innerhalb einer Stunde dreimal mit Prostigmin decurarisieren ließen, ohne dass die Prostigmindosis erhöht werden musste oder ohne dass die Empfindlichkeit gegenüber den Alkaloiden zunahm. Die drei Alkaloide lassen sich also ohne Kumulation nach vorhergehender Prostigmindecurarisierung mehrmals hintereinander anwenden.

Als antagonistische Prostigmindosis bezeichneten wir diejenige, die zwischen 30 Sekunden nach Injektionsbeginn bis 30 Sekunden nach Injektionsschluss das anfängliche Curarisierungsstadium aufzuheben vermag. Die zur Aufhebung der head-drop-Limesdosis notwendige Prostigminmenge ist begreiflicher-

weise nicht durch die sukzedane Prostigminapplikation zu bestimmen, sondern lässt sich nur durch absteigende Interpolation der für höhere Alkaloidmengen bestimmten antagonistischen Dosis berechnen, da ja der head-drop bei der Limesdosis nur verschwindend kurze Zeit dauert und sein Verschwinden nicht auf Prostigminwirkung zurückgeführt werden kann.

Für die Aufhebung der Wirkung einer Gewichtseinheit Alkaloid wurden beim C-Toxiferin I 6,5 ($\pm 25\%$), beim C-Curarin I 4,0 ($\pm 20\%$) und beim C-Calebassin 0,35 ($\pm 17\%$) Gewichtseinheiten Prostigmin benötigt. Die antagonistischen Prostigmindosen sind bis zum Curarisierungsgrad Atemstillstand streng proportional der Alkaloiddosis. Höhere Alkaloidmengen, d.h. solche, die über der Atemstillstandsdosis liegen, verlangen Prostigminmengen, die fast proportional dem Quadrat der Alkaloiddosis sind.

Eine Prostigminüberdosierung macht sich durch rascheren Eintritt der antagonistischen Wirkung bemerkbar, und zwar bewirkt das Eineinhalbfache der antagonistischen Prostigmindosis eine Verkürzung des Wirkungseintrittes um ca. 50%. Darüberhinausgehende Prostigminüberdosierung vermag den Wirkungseintritt nicht weiter zu beschleunigen, bewirkt aber in den meisten Fällen bereits objektiv feststellbare Prostigminnebenwirkungen wie vermehrte Salivation, Defaecation und Miosis..

Wir pflichten ferner Chase und Mitarbeitern bei in ihrer Feststellung, dass eine über der doppelten antagonistischen Prostigminmenge liegende Dosis den head-drop bereits verlängern kann. Für die klinische Verwendung des Prostigmins als Anticurarisans erachten wir diese Beobachtung als ausserordentlich wichtig; denn eine Prostigminüberdosierung ist wahrscheinlich mit keinem pharmakologischen Mittel mehr zu bekämpfen.

In Kontrollversuchen verlängerten wir den durch die dreiminütige head-drop-Dosis hervorgerufenen head-drop auf das Doppelte seiner Dauer durch Injektion der fünffachen antagonistischen Prostigminmenge und stellten dabei fest, dass die verstärkend curarisierende Prostigminwirkung ihrerseits nicht etwa wieder durch Curarealkaloide zu bekämpfen ist. Es ist theoretisch ja auch nicht vorstellbar, dass das Prostigmin als Curarisans durch ein anderes Curarisans in seiner Wirkung aufgehoben werden könnte.

Zusammenfassung.

Die curarisierende Wirkung der drei Calebassen-Curarealkaloide C-Toxiferin I, C-Curarin I und C-Calebassin wurde im Serienfroschversuch nach verschiedenen Kriterien untersucht. Das Experiment ergab eindeutig, dass das C-Toxiferin I hinsichtlich minimal paralytischer Dosis, Curarisierungsdauer und therapeutischer Breite an erster Stelle steht.

Im Zusammenhang mit der Toxizitätsbestimmung wurde versucht, einen während der Curarisierung bestehenden Heterochronismus zwischen Nerv und Muskel nachzuweisen. Die indirekte Chronaxiemessung zeigte, dass die Chronaxie des Muskels nicht erhöht ist, solange noch eine indirekte Erregbarkeit besteht.

Im Kaninchenversuch wurde die quantitative antagonistische Prostigmindosis in verschiedenen Curarisierungsstadien bestimmt. Der Prostigminantagonismus steht in einem streng proportionalen Verhältnis zur Alkaloiddosis und zum Curarisierungsgrad.

Verzeichnis der benützten Literatur.

1. H. Wieland, B. Witkop, K. Bär, H.J. Pfister, Konz und Sonderhoff:
Ann.chem. 527/160, 1939; 536/68, 1938; 547/140, 1941; 547/156, 1941.
2. P. Karrer und H. Schmid: Helv. chim. acta 29/1853, 1946; 30/1162 und 30/2081, 1947.
3. D. Bovet et F. Bovet-Nitti: Experientia Vol. IV, 9/325, 1948.
4. D. F. Marsh: Ann. New York Acad. of Science Vol. 54, 307, Okt. 51.
5. H. King: Nature 135/469, 1935.
6. R. Boehm: Handbuch der exp. Pharmakolog. Bd. II, pagg. 179 ff, 1920.
7. A. R. McIntyre: Curare. The Univers. of Chicago Press 1947.
8. P. G. Waser: Helv. physiol. acta 8/343.
9. P. Karrer, C. H. Eugster und P. G. Waser: Helv. chim. acta 32/2381, 1949.
10. W. D. M. Paton und W. L. M. Perry: Brit. Journ. of Pharmacolog. 6/299, 1951.
11. S. Salama und S. Wright: Brit. Journ. of Pharmacolog. 6/459, 1951.
12. M. Lapique: Journ. de physiolog. et de patholog. gén. 16/988, 1914 und Compt. rend. soc. biol. 134/69, 1940.
13. J. Raaflaub und W. Wilbrandt: Helv. Physiol. et Pharmacolog. acta 8/44, 1950.
14. Schmid und Karrer: Helv. chim. acta 33/512, 1950.
15. H. Sidney Newcomer: Curare-Intocostirin. E. R. Squibb & Sons, New York 1946.
16. W. Feldberg: Brit. Medical Journ. 5. Mai 1951, p. 967.
17. The Physico-chemical Mechanism of Nerve Activity: Sammelreferate aus Ann. of the New York Acad. of Scienc., Vol. XLVII, Art. 4, pagg. 375-602.
18. A. Fleckenstein: Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmacol. Bd. 212, 50/51, p. 416.

Curriculum vitae.

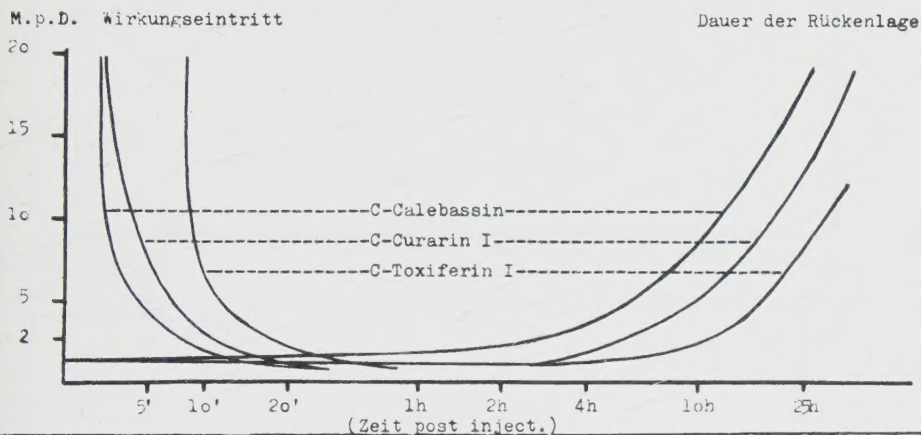
Ich wurde am 21. Februar 1925 in Zürich geboren, besuchte ebendort die Primarschule und das humanistische Gymnasium der Kantonsschule und absolvierte vom Winter 1944/45 bis Herbst 1951 an der Universität Zürich meine sämtlichen medizinischen Studien und Practica.

Dank der freundlichen Unterstützung und Beratung meines verehrten Lehrers, Herrn Prof. Dr. med. H. Fischer und seines ersten Assistenten, Herrn PD Dr. med. et chem. P. G. Waser, die mir eine ausserordentlich selbständige und freie Arbeitsweise gewährten, konnte ich in den vier nach meinem Staatsexamen folgenden Monaten den experimentellen Teil meiner Dissertation abschliessen, so dass ich im April 1952 meine erste Assistentenstelle an der Heil- und Pflegeanstalt Hasenbühl, Liestal, anzutreten imstande war.

Den beiden Forschern, die mich in die Methodik des pharmakologischen Experimentes einführten und mit kritischen Anregungen meine Arbeit förderten, möchte ich an dieser Stelle herzlich danken.

Kurve 1.

Wirkungseintritt und Dauer der Rückenlage bei verschiedenen Dosierungen.



Kurve 5.

Curarisierungszindex bei verschiedener Dosierung.

